

Aus der Chirurgischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. G. Hegemann

Tierexperimentelle Untersuchungen
zur Wirkung von endogenem Pankreas-
glucagon und intravenöser Glucagoninfusion
auf Urin- und Serumelektrolyte

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Hans-Georg Helmut Widmann
aus Tübingen

1976 # 335



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546228_0122

Aus der Chirurgischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. G. Hegemann

Tierexperimentelle Untersuchungen zur Wirkung von endogenem Pankreas- glucagon und intravenöser Glucagoninfusion auf Urin- und Serumelektrolyte

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Hans-Georg Helmut Widmann
aus Tübingen

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent: Priv.-Doz. Dr. Dr. O.P. Schwille

Korreferent: Prof. Dr. A. Sigel

Tag der mündlichen Prüfung: 26. Juli 1976

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einführung	1
II. Problemstellung	2
III. Material und Methoden	5
IV. Ergebnisse	8
V. Diskussion	18
VI. Zusammenfassung	24
Literaturverzeichnis	26

I. EINFÜHRUNG

Glucagon (G) hat neben seinen Wirkungen im Kohlenhydratstoffwechsel auch solche auf den Elektrolyt- und Mineralhaushalt (1, 2, 3, 4, 5). Für die klinische Diagnostik wurden diese Befunde wichtig, als über Hyperparathyreoidismusfälle berichtet wurde (6), in welchen nach i.v. Gaben von Glucagon der Serumcalciumspiegel absank und Mehrausscheidungen im Urin von Calcium, Phosphat (anorganisch), Natrium, Kalium, Chlorid, Ammonium und H^+ -Ionen beobachtet wurden. Nachdem aber Pankreasglucagon durch Aminosäurezufuhr (i.v., intraduodenal) stimulierbar ist (7), erscheint eine neue Überprüfung der Ätiologie der sog. "idiopathischen Hypercalciurie" gerechtfertigt.

Über die Beteiligung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) an der glucagonvermittelten Hyperelektrolyturie bestehen unterschiedliche Auffassungen. Während mehrere Beobachter keine oder keine statistisch sicheren GFR-Schwankungen beobachten konnten, wird in jüngster Zeit dieser Faktor für die gesteigerten Elektrolytraten im Urin verantwortlich gemacht (8). Nach diesen Untersuchungen zu schließen kommt den durch Glucagon ausgelösten hämodynamischen Veränderungen an der Niere ursächlich die entscheidende Bedeutung zu. Eine Änderung des arteriellen Mitteldrucks konnte zwar nicht objektiviert werden, hingegen soll es zu einer Erniedrigung des Widerstandes in der postglomerulären Strombahn mit verstärktem Zufluß aus den efferenten Arteriolen der Glomeruli kommen. Wahrscheinlich ist an diesem Mechanismus, der zur konsekutiven Verminderung der Elektrolytreabsorption im proximalen Tubulus führt, auch eine Veränderung des onkotischen Kapillardrucks beteiligt.

Bis zum heutigen Tag fehlen Ergebnisse zur Frage, ob endogen freigesetztes, körpereigenes Glucagon im genannten Sinne an der Niere wirksam werden kann. Die Entscheidung darüber hätte

u.U. erhebliche klinische Konsequenzen zur Folge, insbesondere bezüglich der Natur der sog. "idiopathischen Hypercalciurie". Es herrscht die Annahme vor, daß diese Form der Hypercalciurie lediglich Ausdruck einer gesteigerten enteralen Calciumabsorption sei (9, 10), obgleich an dieser Interpretation immer wieder Zweifel aufgekommen sind (11). Die Arbeitsgruppe von UNGER in Dallas (Texas) konnte in den letzten Jahren grundlegende Arbeiten über die biologische Bedeutung des alphazellständigen Pankreasglucagons in der Pathophysiologie des Inselorgans eine viel größere Bedeutung zukommt, als man bisher annehmen konnte. Die radioimmunologische Bestimmbarkeit des Hormons führte zu Ergebnissen, die sowohl die Pathogenese des menschlichen Diabetes mellitus als auch die Auswirkungen von intravenösen Aminosäureinfusionen im Verlaufe schwerer Erkrankungen (parenterale Ernährung) um völlig neue Gesichtspunkte bereichern konnte.

II. PROBLEMSTELLUNG

Nach den vorstehenden Ausführungen haben eine Reihe von Aminosäuren eine spezifische Potenz, pankreatisches Glucagon bzw. Insulin freizusetzen (12). Jetzt sollte untersucht werden, ob ein Einfluß auf die Elektrolytausscheidung im Urin in der Weise erfolgt, daß gesteigertes Calcium, Phosphat und Harnsäure einem erniedrigten Magnesium gegenüberstehen (Quotient

$$\frac{\text{Ca} \times \text{PO}_4}{\text{Mg}}$$

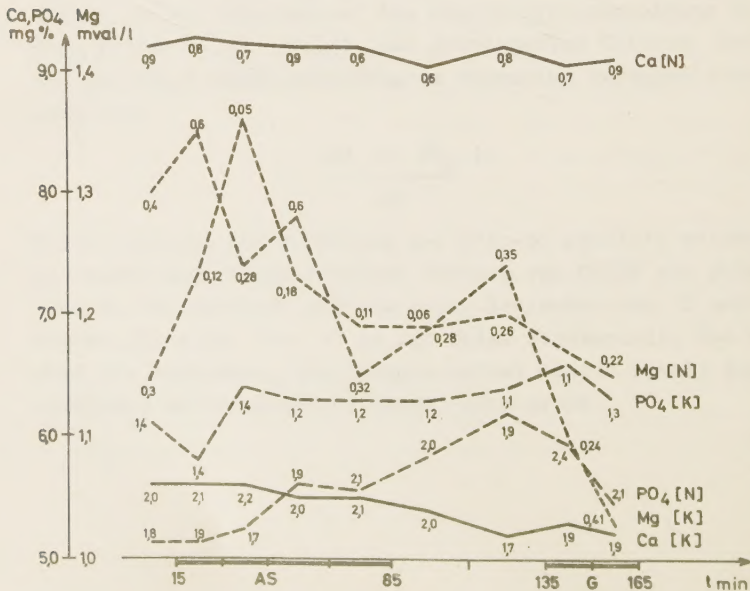
Zusätzlich muß das Verhalten des Urin-pH studiert werden. Wir haben dazu einen früheren Versuch von UNGER zur Stimulierbarkeit von Glucagon mittels eines Gemisches von 10 Aminosäuren (5, siehe Tab. 1) in der Weise abgewandelt, daß wir ohne die Bestimmung des Hormons selbst dessen renale Auswirkungen am Versuchstier (Hund) studierten.

Außerdem sollte überprüft werden, ob glucagonabhängige renale Auswirkungen der Vermittlung des Schilddrüsen-Nebenschilddrüsen-systems bedürfen. Dieser Punkt erscheint von Bedeutung, nachdem bekannt wurde, daß i.v. appliziertes Glucagon thyreoidales Calcitonin freizusetzen vermag (13, 14). In einer letzten Versuchsreihe mußte außerdem geprüft werden, ob renale Effekte auch durch darmwandständiges Glucagon (sog. Enteroglucagon) allein ausgelöst werden.

Tab. 1 : Aminosäuregemisch nach Unger (7)
zur Stimulation von
Pankreasglucagon.
Isosmotische Lösung
(0,15 m NaCl), pH 4,0.

	per cent		per cent
L - arginine	9,7	L - valine	12,0
L - lysine	15,1	L - histidine	4,9
L - phenylalanine	13,0	L - isoleucine	9,4
L - leucine	15,7	L - threonine	7,4
L - methionine	9,5	L - tryptophan	3,3

Abb. 1 : Serumwerte von Calcium (Ca), anorganischem Phosphat (PO_4) und Magnesium (Mg) bei intakten (N) und thyreoparathyreoid-
dektomierten (K) Tieren nach intraduodenaler Verabreichung
eines Aminosäuregemisches (As) und exogener Glucagoninfu-
sion (G). Standardabweichungen in Ziffern.



III. MATERIAL UND METHODEN

Die Versuche wurden an Bastardhunden beiderlei Geschlechts durchgeführt (Abt. experimentelle Chirurgie der Chirurgischen Universitätsklinik). Die Tiere wurden mit Barbiturat (Trapanal) narkotisiert und während der ganzen Versuchsdauer mittels eines Respirators (Harvard, Boston) endotracheal beatmet. Die Narkose wurde in allen Fällen möglichst flach gehalten, d.h. Barbiturat nur in kleinen Mengen nachdosiert. In Rückenlage median laparotomiert, wurde eine Magensonde unter Fingerkontrolle bis zur Höhe der Vater'schen Papille ins Duodenum geleitet und lokal fixiert. Anschließend wurde entweder eine Sitzbein-Urethrotomie (männliche Tiere) vorgenommen und ein Blasenkatheter (Rüsch Nr.10) eingelegt, oder (weibliche Tiere) ein gleicher Katheter unter endoskopischer Kontrolle in der Blase plaziert. Für die Blutentnahme wurde eine A. femoralis kanüliert; als Infusionsweg diente entweder eine Vorarmvene oder eine Jugularvene.

Diurese: Als Trägerlösung für Inulin diente eine Ringerlösung ohne Glucosezusatz, zusätzlich 40 ml/h Mannit 20%. Dosierung des Inulin: Initial 0,1 g/kg min. Dauerinfusion 1 mg/kg min.

Die Äquilibrierungszeit betrug 60 min, in einigen Versuchen war sie gering kürzer. Danach bestand in der Regel ein Urinfluß zwischen 0,8 und 1,5 ml/min. Nach Abnahme von zwei Clearancekontrollperioden (II = Mittelwert) erfolgte die intraduodenale Aminosäurezufuhr (s. Tab.1) mittels elektrisch betriebener Pumpe während 70 min (120 ml/h).

Nach einer Wartezeit von 50 min wurde den Tieren i.v. Glucagon zugeführt (0,01 mg/kg KG/h) während 30 min. Das Verhalten von GFR und Urinelektrolyten unter beiden Versuchsabschnitten sollte die Glucagonwirkung besser illustrieren. Ein typisches Versuchsprotokoll demonstriert Tabelle 2. Versuchszeit: September bis Mai.

Analytische Bestimmungen: Inulin nach DAVIDSON (15), anorganisches Phosphat nach FISKE und SUBBAROW (16), Kalium und Natrium durch Flammenphotometrie, Calcium komplexometrisch (17), einschließlich ultrafiltrierbarem Anteil.

Magnesium wurde durch Atomabsorptionsphotometrie erfaßt (Institut für Arbeitsmedizin der Universität Erlangen), Urin-pH und Titrationsazidität (soweit angefallen) elektrometrisch. Die Konzentration der osmotisch aktiven Substanzen in Urin und Serum wurde mit einem Mikroosmometer (Knauer, Berlin) bestimmt. Die osmolare Clearance errechnet sich nach folgender Formel:

$$C_{\text{osm}} \text{ (ml/min)} = \frac{U_{\text{osm}} \times V}{S_{\text{osm}}}$$

C_{osm} = Konzentration osmotisch aktiver Substanzen im Urin (U) oder Serum (S)

V = Urinvolumen (ml/min)

Tabelle 2 : Ablauf eines typischen Versuches zur Überprüfung der renaln Auswirkungen eines intraduodenal applizierten Aminosäuregemisches. Als Vergleich die Auswirkungen nach i.v. zugeführtem Glucagon (intakter Hund).
 II : 2 Kontrollperioden (Mittelwert).
 III-VI : Aminosäuren intraduodenal (120 ml/h).
 VII-VIII : Kontrollperioden vor i.v. Glucagon.
 IX-X : exogenes Glucagon (0,01 mg/kg/h) über 30 min.

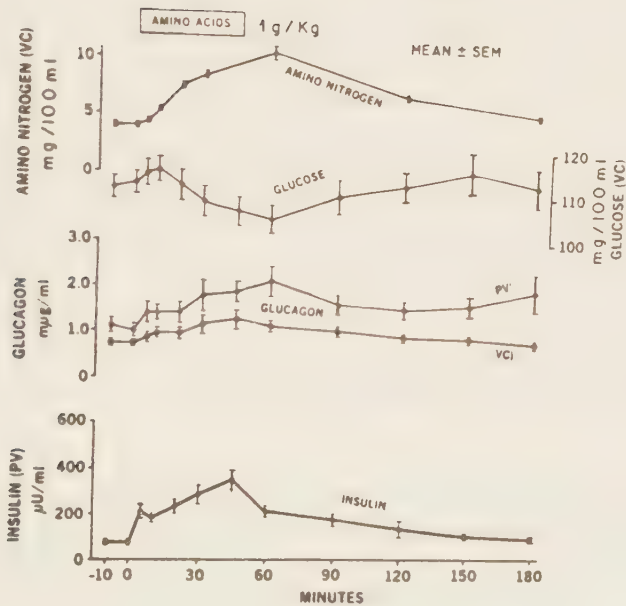
Periode	Dauer min	V_U ml/min	GFR ml/min	$Na_U \times 100$ GFR μval/min	$K_U \times 100$ GFR μval/min	$Ca_U \times 100$ GFR μg/min	$PO_4 \times 100$ GFR μg/min	$Mg_U \times 100$ GFR μval/min	pH
II	15	2,0	54,0	75,8	28,05	67,95	168,8	2,41	8,14
III	15	1,14	45,2	29,4	28,3	51,8	133,1	1,6	8,2
IV	15	2,07	32,4	104,5	63,5	107,0	230,0	4,41	7,24
V	20	3,20	37,5	88,5	62,0	73,4	617,0	2,85	7,1
VI	20	2,65	34,5	132,2	62,2	103,0	794,0	4,02	7,84
VII	25	1,88	52,2	64,0	37,2	76,6	410,0	4,37	7,76
VIII	25	1,48	44,4	61,2	40,6	77,8	380,0	3,39	7,52
IX	15	1,66	51,9	94,0	45,1	91,0	592,0	3,35	7,22
X	15	0,33	8,45	7,83	30,3	98,5	3115,0	4,22	7,55

IV. ERGEBNISSE

A. Serum: Das Verhalten der Serumkonzentration von Calcium, anorganischem Phosphat und Magnesium bei intakten (N) und thyreoparathyreoidektomierten Tieren (K) zeigt Abb. 1. Der früher beobachtete Calciumabfall nach exogener Glucagongabe (PALOYEN) konnte unter dieser Versuchsanordnung mit endogen freigesetztem Glucagon nicht beobachtet werden. Es zeigt zwar eine geringe Tendenz zum Abfall, geht jedoch nicht parallel dem von UNGER beschriebenen Hormonpeak zwischen der 40. und 60. Minute (Abb. 2). Wahrscheinlich ist es als Ausdruck der geringen Vergrößerung des extrazellulären Raumes des Versuchstieres infolge gesteigerter Flüssigkeitszufuhr zu werten. Der auffälligste Befund ist, daß Serummagnesium unter Glucagon deutlich ansteigt (n.s.) und später wieder dem Ausgangswert unter Kontrollbedingungen zustrebt (n.s.). Anorganisches Serumphosphat zeigt auch nicht den erwarteten Abfall, sondern viel eher einen geringen, nicht signifikanten Anstieg bis zur 120. Minute, um in der Folge unter exogenem Glucagon deutlich abzufallen.

Thyreoparathyreoidektomierte Tiere (K): Hier findet sich die für diese Tiere niedrige Calciumkonzentration schon zu Beginn des Versuchs. Auch in dieser Gruppe weist das Calcium keine Schwankungen auf, die Rückschlüsse auf eine hypocalcämische Wirkung von endogenem Glucagon zuließen. Umgekehrt verläuft das anorganische Phosphat nach einem initialen Abfall und folgendem Anstieg unter Aminosäurestimulation plateauartig bis zum Versuchsende. Magnesium im Serum ist bereits unter Kontrollbedingungen deutlich höher als bei intakten Tieren, fällt aber kontinuierlich ab und erreicht seinen tiefsten Wert nach exogener Glucagongabe (1,03 mval/l).

Abb. 2 : Darstellung des Verlaufs von Glucagon, Glucose und Insulin sowie Alpha- Aminostickstoff im Blut nach Verabreichung von 1 g/kg KG Aminosäurengemisch (intraduodenal, n. Unger, 7).



Natrium und Kalium: Tabelle 3 enthält die Natrium- und Kaliumwerte im Serum. Es zeigt sich, daß Natrium während des Versuchs um 4 mval/l im Mittel absinkt, während umgekehrt Kalium geringfügig ansteigt (intakte Tiere). Bei thyreoparathyreoidektomierten Tieren fehlt diese Wertegruppierung, d.h. Natrium bleibt nahezu konstant, Kalium steigt nur ganz geringfügig an.

B. Urinbefunde

1. Glomeruläre Filtrationsrate (GFR): In Abb.3 wird das Verhalten der Inulin-clearance unter unseren Versuchsbedingungen wiedergegeben. Bei intakten Tieren sieht man nach Beginn der intraduodenalen Aminosäureinfusion einen initialen, nicht signifikanten GFR-Anstieg. Zum Zeitpunkt des Hormonmaximums (50. min) liegt die GFR jedoch bereits unterhalb der Ausgangswerte (60 ml/min). Auch unter exogenem Glucagon reagiert die GFR wiederum mit einem geringfügigen Anstieg. TPX-Tiere zeigen einen anderen GFR-Verlauf: Die Ausgangswerte liegen bereits deutlich höher, die höchsten Werte werden am Ende der exogenen Glucagongabe beobachtet. Zum Zeitpunkt des Hormonmaximums findet sich eine signifikante Dissoziation beider Kurvenverläufe ($p < 0,05$). Das Verhalten der GFR bei pankreaslosen Tieren wird durch die geringe Anzahl ($n=3$) in der Aussagekraft stark herabgesetzt.

2. Urin-natrium, -kalium, -chlorid: In Abb.4 wird das Verhalten dieser Elektrolyte zur Darstellung gebracht. Hier imponiert ein gleichzeitiger Anstieg aller drei Elektrolyte zum Zeitpunkt des Hormonmaximums (n.s.) mit einem steilen Abfall auf das Niveau der Ausgangswerte nach der 50. Minute. Ein nahezu gleiches Kurvenbild sieht man, wenn Glucagon exogen zugeführt wird. (intakte Tiere). Bei TPX-Tieren fehlt der initiale Kalium- und Chloridanstieg. Uncharakteristisch ist das Urinnatrium bei diesen Tieren, indem es mit gegenüber

Tabelle 3: Das Verhalten von Natrium, Kalium und des $\text{Ca} \times \text{PO}_4$ - Produktes nach Aminosäurenstimulation (Intraduodenal) von endogenem Glucagon (III-VI) und vergleichsweise exogener Glucagonzufuhr (IX-X). Mittelwerte $\pm$ 1-fache Standardabweichungen.

	Natrium mval/l		Kalium mval/l		$\text{Ca} \times \text{PO}_4$ (mg/100 ml) ²	
	N	K	N	K	N	K
II	153,5	7,02	148,7	12,3	3,76	0,52
III	153,9	6,5	153,4	22,2	3,91	0,6
IV	150,5	2,3	154,1	16,5	3,78	0,46
V	153,2	7,9	156,2	25,3	3,94	0,38
VI	149,1	3,6	153,1	15,5	3,94	0,38
VII	148,3	4,86	154,9	23,3	4,03	0,29
VIII	143,7	10,2	150,5	20,8	4,04	0,24
IX	149,4	3,5	153,8	20,7	4,31	0,79
X	149,4	1,7	154,9	15,6	4,06	0,41
					47,67	19,27
					48,20	20,20
					48,73	17,06
					52,19	20,29
					51,61	19,28
					53,13	19,21
					55,70	18,37
					54,30	21,76
					49,50	19,72
					32,37	7,92
					30,75	7,11
					33,83	2,11
					33,27	8,70
					33,32	3,51
					32,86	3,03
					32,28	2,92
					33,98	2,47
					31,67	3,50

Abb. 3 : Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) bei intakten, thyreoparathyreidektomierten und pankreaslosen Hunden unter endogener Stimulation (As) und exogener Glucagonzufuhr (G). $\bar{x} \pm 1 s$

N: Intakt (n=7)
K: Thyreoparathyreidektomiert (n=7)
P: Pankreaslos (n=3)

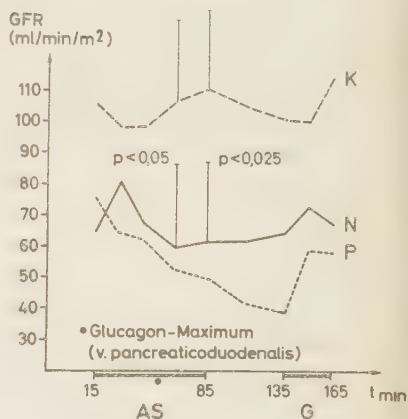
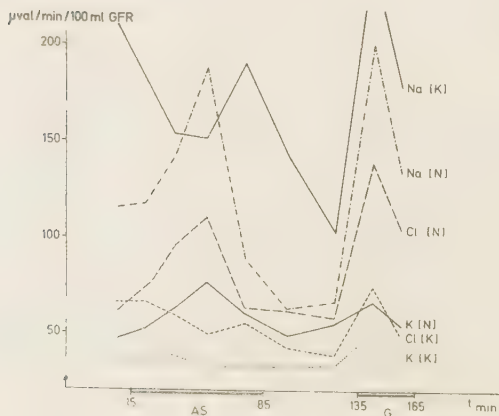


Abb. 4 : Urinausscheidung von Natrium, Kalium und Chlorid bei intakten (N) und thyreoparathyreidektomierten (K) Tieren. Sonst wie Abb. 3 . Mittelwerte.



intakten Tieren stark erhöhten Ausgangswerten beginnt, unter Glucagonstimulation zunächst abfällt und bis zum Beginn der exogenen Glucagongabe auf etwa die Hälfte des Kontrollwertes zurückgeht.

3. Urincalcium und -phosphat: Bei intakten Tieren gilt das für die vorgenannten Elektrolyte Gesagte: Auch hier sieht man um die 50. Minute einen deutlichen, jedoch nicht signifikanten Anstieg von Calcium und Phosphat, der bei TPX-Tieren nicht mehr zur Darstellung kommt (Abb.5).

4. Urinammoniak, Titrationsazidität und Urin-pH: In Abb. 6 werden die Mittelwerte dieser Uringrößen während des ganzen Versuchsablaufs dargestellt. Die deutlich negative Beziehung zwischen ausgeschiedenen H^+ - Ionen und aktuellem Urin-pH ist bei intakten Tieren, TPX- und pankreaslosen Tieren zu beobachten. Den stärksten pH-Abfall bzw. H^+ - Ionenanstieg sieht man nach exogener Zufuhr von Glucagon. Abweichend von diesem Grundverhalten zeigt Ammoniak bei pankreatektomierten Tieren frühzeitig an, jedoch ist die Aussagekraft wegen der geringen Anzahl ($n=3$) herabgesetzt.

5. Urinharnsäure: Endogene Glucagonstimulation hat einen Anstieg der Urinharnsäure von $250,6 \pm 68,1$ $\mu g/min$ auf $360,5 \pm 125,9$ $\mu g/min$ zur Folge (50. min). Die Harnsäureausscheidung hält sich nahezu auf diesem Niveau, um aber unter exogenem Glucagon nochmals deutlich anzusteigen (Maximalwert $458,1 \pm 145,9$ $\mu g/min$, Tab. 4).

6. Gesamtausscheidung osmotisch wirksamer Substanzen, Clearance des freien Wassers und Urinvolumen: Tabelle 5 zeigt, daß dem für die Elektrolyte beschriebenen Verhalten auch allgemein ein Anstieg der osmolaren Clearance entspricht, sowohl unter endogener Stimulation als auch unter exogener Glucagonzufuhr (intakte Tiere). Das Urinvolumen steigt ebenfalls an. Die Clearance des osmotisch freien Wassers (C_{H_2O})

Abb. 5 : Urinausscheidung von Calcium und anorganischem Phosphat bei intakten (N) und thyreoparathyreoidektomierten Tieren. Sonst wie Abb. 3 .
Mittelwerte.

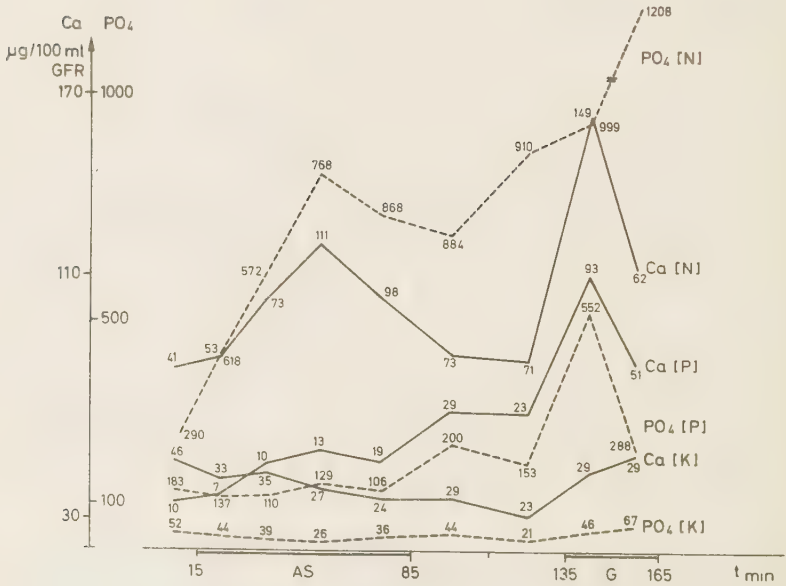


Abb. 6 : Urinausscheidung von Ammoniak und H^+ - Ionen sowie Urin - pH bei intakten, thyreoparathyreoidektomierten und pankreaslosen Tieren. Sonst wie Abb. 3 . Mittelwerte.

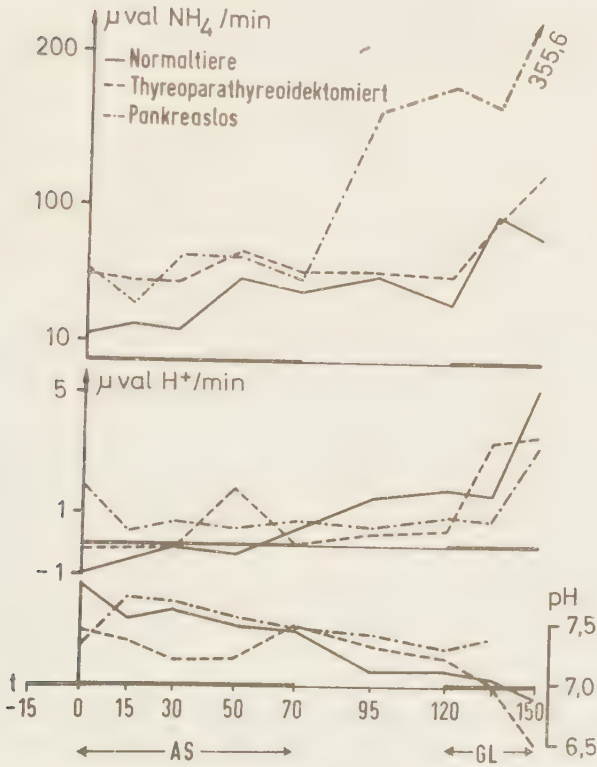


Tabelle 4 : Das Verhältnis zwischen Urinmagnesium (harnsteinprophylaktisch) und Urincalcium bzw. -phosphat (harnsteinfördernd)

$$\frac{\text{Ca} \times \text{PO}_4}{\text{Mg}}$$

und die Entwicklung der Urinharnsäure unter intra-duodenaler Aminosäurezufuhr (III - VI) bzw. exogener Glucagongabe (IX - X).

Mittelwerte $\pm$ 1-fache Standardabweichungen.

	$\frac{\text{Ca} \times \text{PO}_4}{\text{Mg}}$				Harnsäure $\mu\text{g}/\text{min}$			
	N		K		N		K	
II	3,95	5,34	8,01	16,75	250,6	68,1	250,3	185,7
III	2,61	2,50	1,67	2,2	287,6	104,4	314,3	217,0
IV	3,70	3,66	2,03	2,3	295,7	92,7	265,9	181,7
V	6,11	8,57	2,76	5,01	360,5	125,9	253,1	144,4
VI	8,78	12,59	1,44	1,54	341,6	106,6	272,5	179,0
VII	7,30	8,67	1,76	1,77	368,5	118,7	311,1	243,5
VIII	11,90	11,65	1,56	1,05	391,1	121,1	333,6	220,4
IX	20,82	20,58	3,75	3,12	433,0	152,0	333,1	196,4
X	64,28	93,47	11,98	15,30	458,1	145,9	382,3	252,4

Tabelle 5 : Urinvolumen (V_U), osmolare Clearance (C_{osm}) und Freiwasser clearance (C_{H_2O}) bei intakten (N) und thyreoparathyreoktometerten (K) Tieren unter intraductodener Stimulation von Glukagon (II-VI), während einer Zweitsperiode (VII-VIII) und exogener Zufuhr von Glukagon (IX-X).

Mittelwerte $\pm$ 1-fache Standardabweichungen.

	V_u ml/min		C_{O_2} ml/min		C_{H_2O} ml/min	
	N	K	N	K	N	K
II	2,59	1,36	3,23	1,76	3,95	1,61
III	3,28	2,45	4,47	2,15	4,34	1,19
IV	3,40	1,83	4,37	1,76	4,11	1,14
V	3,91	1,53	4,59	1,2	4,32	1,37
VI	3,61	1,51	4,24	0,98	4,62	1,61
VII	3,28	2,02	3,91	1,32	4,91	1,77
VIII	3,63	2,15	3,28	2,18	5,44	2,22
IX	3,65	1,04	5,04	2,3	6,44	1,64
X	3,95	1,40	5,07	2,04	6,85	1,69

fällt gering ab. Der Diuresezuwachs (V_U) ist auch nach Entfernung der Schilddrüsen und Nebenschilddrüsen (TPX) zu beobachten (Ausgangswert 2,24 ml/min, Maximalwert 2,71 ml/min). Die Freiwasserclearance zeigt aber einen erheblichen Anstieg (1,96 ml/min von Versuchsbeginn bis -ende).

7. Das Verhältnis von Calcium zu anorganischem Phosphat zu Magnesium im Urin: Die Zuordnung von Magnesium zu Calcium und Phosphat im Urin ergibt sich aus der eingangs getroffenen Feststellung: Dieser Quotient ist für die Klinik der Steinkrankheit von erheblichem Interesse. In Tabelle 5 zeigt sich, daß in der Tat der Quotient unter endogener Freisetzung von Pankreasglucagon ansteigt, aber mit erheblicher Streuung um den Mittelwert (intakte Tiere). Deutlich niedriger liegt der Quotient bei TPX-Tieren, die Streuung um den Mittelwert nimmt noch zu.

V. DISKUSSION

A. Kritik der Versuchsanordnung: Nachdem mehrfach belegt werden konnte, daß das Peptidhormon Glucagon renale Effekte hat und insbesondere die Elektrolytzusammensetzung des Urins zu verändern vermag, mußte die Frage nach der biologischen Bedeutung dieser Hormonwirkung gestellt werden. Unseres Wissens nach liegen bis heute keine Untersuchungen vor, die sich mit einer ähnlichen Versuchsanordnung, d.h. endogener Stimulation von alphasellständigem Glucagon, beschäftigen haben. Aus äußeren Gründen war es nicht möglich, die Versuchstiere über einen ausreichend langen Zeitraum vor dem Eingriff auf eine homogene bzw. bilanzierte Mineralstoffdiät zu setzen und zu adaptieren. Diese Voraussetzungen sind für den chronischen Versuch unerlässlich, fallen allerdings im Akutversuch nicht so stark ins Gewicht, wenn in diesem eine ausreichend lange Äquilibrationszeit eingehalten

- 1 -

wird. Die Entwicklung einer guten Diurese ist abhängig von der zugeführten Flüssigkeitsmenge pro Einheit Körpergewicht und pro Minute. Die Ergebnisse des Versuchs sollten sich nicht auf eine Aussage über Calcium und Phosphat im Urin beschränken, sondern auch Veränderungen anderer Elektrolyte wiedergeben. In Unkenntnis der in jüngster Zeit aufgetretenen experimentellen Befunde um einen sog. "dritten Faktor" in der Regulation der Natriumausscheidung haben wir die Kochsalzzufuhr nicht streng genug limitiert. Die Ergebnisse der Natriumausscheidung und jene der mit ihr kausal verknüpften Calciumausscheidung müssen unter diesem Gesichtspunkt bewertet werden (große Standardabweichungen)! Umgekehrt ist es statthaft, das Osmodiuretikum Mannitol als Zusatz zur Infusionslösung zu verwenden, ohne Gefahr zu laufen, daß diese Substanz selbst nennenswerten Einfluß auf die Zusammensetzung der Elektrolyte im Urin hätte (Ausnahme: Urin-Bikarbonat).

Als vorteilhaft wurde die Gegenüberstellung von endogener Stimulation und exogener Zufuhr von Glucagon bezeichnet, wenngleich damit nicht gesagt werden kann, daß quantitativ und qualitativ ähnliches Verhalten eines Elektrolyts unter beiden Versuchsanteilen auf die gleiche Ursache zurückgeht. Dies trifft insbesondere für den Fall zu, daß unter intraduodenaler Aminosäurengabe auch andere darmwandständige und renal wirksame Peptidhormone freigesetzt werden (Pancreozymin, Sekretin).

B. Kritik der Ergebnisse:

Die glomeruläre Filtrationsrate: Durch Beobachtungen in jüngster Zeit konnte belegt werden, daß exogenes Glucagon in Konzentrationsbereichen, die jenen des täglichen Rhythmus nahe kommen, die glomeruläre Filtrationsrate zumindest initial anzuheben vermag (8). Voraussetzung für diese Aussage ist eine Versuchsdurchführung im Gleichgewicht von Flüssigkeits- und Elektrolytzufuhr bzw. -ausscheidung. Nach unserer Erfahrung ist diese Bedingung über

längere Zeit nur schwer einzuhalten. LEVY und Mitarbeiter (8) konnten beweisen, daß die beobachteten GFR-Anstiege weitaus genügten, um die immer wieder beschriebenen gesteigerten Natriumraten im Urin unter Glucagon zu erklären. Wir selbst können zunächst bestätigen, daß es unter endogener Hormonfreisetzung zwar initial zu einem GFR-Anstieg kommt, daß aber zur Zeit des Hormonmaximums ein solcher nicht zu beobachten ist. Wenn umgekehrt bei TPX-Tieren eine beträchtlich höhere GFR unter Kontrollbedingungen vorliegt, die nun unter Stimulationsbedingungen einen Anstieg zeigt, so werden damit zwei Fragen aufgeworfen: 1. Unterscheiden sich exogenes und endogenes Glucagon bezüglich ihres Wirkungscharakters an der renalen Hämodynamik (GFR) und 2. welche Rolle spielen Schilddrüse und Nebenschilddrüse? KAUFMAN und Mitarbeiter (18) bewiesen, daß die GFR bei TPX-Tieren signifikant höher ist verglichen mit scheinoperierten. Sie führen dieses Verhalten auf eine Erniedrigung des renalen Gefäßwiderstandes zurück, nachdem HADDY und Mitarbeiter (19) bereits 1963 unter Hypocalcämie keine Änderung von GFR bzw. renalem Blutstrom beschrieben haben. Unsere Befunde lassen aber auch die Vermutung zu, daß sich biologische Glucagonkonzentrationen an der Niere entweder nur kurzfristig in einer GFR-Steigerung manifestieren, oder aber daß es zu einem nachhaltigen glucagonabhängigen Anstieg erst nach Ausfall bzw. Beseitigung der Schilddrüsen und Nebenschilddrüsen kommt. Nachdem die hämodynamischen Wirkkomponenten des Glucagons in letzter Zeit deutlich herausgearbeitet werden konnten (20), erscheint die experimentelle Bearbeitung der Zusammenhänge zwischen Inselorgan und renaler Hämodynamik vorrangig wichtig. Die immer wieder vermutete und auch experimentell nachgewiesene funktionelle Beziehung zwischen Alpha-Zellen und C-Zellen der Schilddrüse könnten für die Frage wegweisend werden, ob dem Calcitonin eine biologische Bedeutung zukommt (21).

Sowohl Glucagon als auch Calcitonin wirken im Serum nicht nur hypocalcämisch, sondern auch hypophosphatämisch, d.h. sie

streben eine Erniedrigung des $\text{Ca} \times \text{PO}_4$ -Produktes an. Während für Calcitonin bewiesen ist, daß es eine Mineralisation der osteoiden Säume fördert und in nur geringem Umfang die Knochenresorption hemmt, ist für Glucagon vergleichsweise wenig Sicheres über Skelettwirkungen bekannt. Allgemein wird angenommen (22), daß vorzugsweise die Knochenresorption gehemmt wird. Übertragen auf die Calcium- und Phosphorwerte im Serum müßte das bedeuten, daß fallende Konzentrationen nicht aus einem Mineraltransport via Knochenzelle bzw. Skelett resultieren, sondern eher einer Hemmung der Parathormonaktivität nahekommen. Von unserem Tiermodell lassen sich zu diesen Schlußfolgerungen keine Hinweise liefern, vielmehr sind unter gleichzeitiger Expansion des extrazellulären Raumes infolge verstärkter Flüssigkeitszufuhr keine Wertegruppierung in dem genannten Sinne zu erhalten.

Ohne gleichzeitige Glucagonbestimmung im Pankreasvenenblut fehlt auch das entscheidende Bindeglied zwischen den im Urin beobachteten Veränderungen und der Frage, ob es sich hier ausschließlich um Glucagonwirkungen handelt. Das in Abb. 2 beschriebene Hormonpeak nach Verabreichung des Aminosäurengemisches (Tab. 1) läßt jedoch stark vermuten, daß die Urinelektrolyte weitgehend glucagonabhängig zustande gekommen sind. Insbesondere die Werte für Natrium, Kalium und Chlorid (Abb. 4) würden diesem Konzept entsprechen, obgleich die Streuung innerhalb der einzelnen Parameter keine statistische Aussage zuläßt. Sinngemäß gilt das gleiche für Urincalcium und -phosphat, sowie - in geringerem Umfang - für Urinharnsäure (Abb. 5; Tab. 4).

Ausgangspunkt dieser Untersuchung war die Überlegung, daß ein Mehr an Calcium, Phosphat und Harnsäure bei variablem Urin-pH eine Kristallisationstendenz auslösen würde. Formalgenetisch orientiert sich die Diagnostik des menschlichen Nierensteinleidens an diesen Größen und Urinmagnesium, die

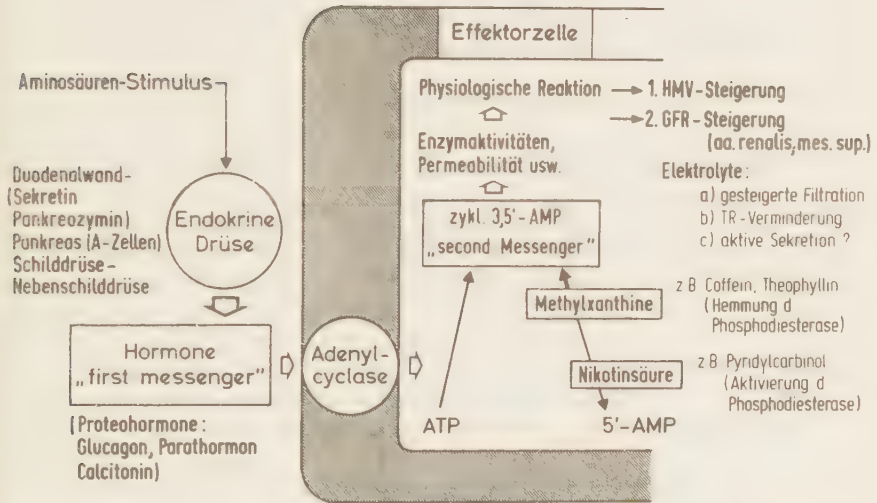
bei Steinkranken regelmäßig pathologisch verändert sind (Quotient Ca/Mg 1,8 - 2,0). Offen blieb bisher die Frage, welche Mechanismen eine Hypercalciurie und -uricosurie auslösen würden. Alle Bemühungen in dieser Richtung gipfelten in der lange Zeit bekannten Behauptung, daß der "idiopathischen Hypercalciurie" eine enterale Calciumhyperabsorption zugrunde liegen würde, deren Ursache allerdings nie geklärt werden konnte.

Unsere Versuche sind eher geeignet, einen Faktor in den Mittelpunkt der experimentellen Untersuchungen zu bringen, dem eine auslösende Rolle zukommen kann, das Glucagon der Alpha-Zellen. Vieles spricht dafür, daß diesem Hormon eine wesentlich größere Bedeutung bei der Regulation energetischer und endokrinologischer Prozesse bzw. Schaltfunktionen zukommt. Abbildung 7 vermittelt schematisch die wesentlichen Wirkungsprinzipien, insbesondere seine Stellung zum zyklischen 3,5-Adenosin-Monophosphat. Unklar ist auch nach dieser Untersuchung der renale Wirkungscharakter, der nicht alleine auf einer GFR-Änderung beruhen kann. Ein tubulärer Angriffspunkt läßt sich aber ebenfalls nicht beweisen. Tatsächlich aber dürfte es sich um definierte Änderungen der tubulären Behandlung von Calcium und Phosphat einerseits sowie Magnesium andererseits handeln: Der Quotient $\frac{\text{Ca} \times \text{PO}_4}{\text{Mg}}$ (Tab. 4) nimmt

trotz erheblicher Streuung kontinuierlich zu. Genau dieser Faktor aber ist als harnsteinfördernd bekannt, d.h. das Verhältnis von Calcium zu Magnesium im Urin Steinkranker steigt auf über 1,8 an (normal 1,3 - 1,5). Möglicherweise bedingen individuelle Regulationsnormen der einzelnen Versuchstiere die starke Streuung.

Kommt es, wie unter Glucagon, zu einer forcierten Ausscheidung von gelösten Substanzen (Anstieg von C_{osm}), so muß zunächst Wasser der tubulären Reabsorption entzogen und als Urin ausgeschieden werden. Dieser Vorgang muß reaktiv eine Adiuretin-

Abb. 7 : Darstellung bisher bekannter Teilschritte der Wirkung von Peptidhormonen (u.a. Glucagon). Rechter Teil der Abbildung : Andeutung des möglichen renalen Wirkungsmechanismus. Modif. nach Sutherland.



Schematische Darstellung des "second messenger"-Systems nach SUTHERLAND u. Mitarb. 1965 (modif.)

ausschüttung zur Folge haben, die für eine ähnliche Versuchsanstellung noch zu beweisen ist.

Zusammenfassend kann auf Grund der Versuchsergebnisse gesagt werden, daß die Verabreichung von Aminosäuren allgemein und einiger im Besonderen nach Kontakt mit der Duodenalwand eine Freisetzung von Pankreasglucagon zur Folge hat. Im Urin beobachtet man zur Zeit der maximalen Hormonausschüttung Veränderungen an Elektrolyten und Wasser, die mit denen nach direkter intravenöser Hormonapplikation in Einklang stehen. Bezogen auf das Problem der Nierensteinkrankheit erfüllt das Hormon über noch ungeklärte Angriffspunkte an der Niere nahezu alle Bedingungen, die an ein prärenales Wirkungsprinzip als steingenetischer Faktor gestellt werden müssen.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

1. Bei intakten, thyreoparathyreoidektomierten und pankreatektomierten Hunden beiderlei Geschlechts wird eine intraduodenale Aminosäurenapplikation vorgenommen in der Absicht, pankreatisches Glucagon freizusetzen.
2. Die durch Glucagon beeinflussbaren Mineralanteile im Serum (Calcium, Phosphor und Magnesium) ändern sich unter den Versuchsbedingungen nicht bzw. nicht charakteristisch.
3. Sowohl unter endogener Stimulation als auch nach exogener Zufuhr von Glucagon sieht man im Urin qualitativ und in Annäherung auch quantitativ gleiche Elektrolytveränderungen: Urinnatrium, -kalium und -chlorid, sowie -calcium und -phosphat steigen an (intakte Tiere). Nach Entfernung der Schilddrüse - Nebenschilddrüsen (TPX) fehlen diese zum Teil bzw. sind deutlich vermindert.

Dieser Befund läßt Rückschlüsse auf funktionelle Beziehungen zwischen Alpha-Zellen und Schilddrüse - Nebenschilddrüsen zu. ,

4. Unter Glucagon kommt es zur Diuresesteigerung im Zusammenhang mit einer Steigerung der osmolaren Clearance. Die Clearance des freien Wassers bleibt beim akuten Versuch nahezu konstant.

5. Das renale Wirkungsprinzip von Glucagon kann nicht ausschließlich in einer Beeinflussung der glomerulären Filtrationsrate gesehen werden. Viel wahrscheinlicher ist, daß tubuläre Transportmechanismen verändert werden, wofür eine deutliche Steigerung von Calcium und Phosphat bei gleichzeitiger Verminderung von Urinmagnesium sprechen.

6. Die Befunde sind - obgleich in vielen Punkten nicht statistisch aussagekräftig - von so erheblicher Bedeutung für die Pathophysiologie des menschlichen Nierensteinleidens, daß zunächst eine Reihe weiterer Untersuchungen über Teilschritte dieser Vorgänge gerechtfertigt ist.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ELRICK, H., HUFFMANN, E.R., HLAD, C.J., WHIPPLE, N.
and STAUB, A.
Effects of glucagon on renal function in man.
J. Endocr. 18, 813, (1958)
2. DE VENANZI, F., CARNEVALI, T., PENA, F.
Further observations on the effect of glucagon on
serum inorganic phosphorus.
Acta. Physiol.Latinoam. 11-12, 351, (1961-62)
3. SERRATO, M. and EARLE, D.P.
Effect of glucagon on renal functions in the dog.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 102, 701, (1959)
4. STAUB, A., SPRINGS, V., STOLL, F., ELRICK, H.
A renal action of glucagon.
Proc. Soc. Exp. Biol.Med. 94, 57-60, (1957)
5. PULLMAN, N., LAVENDER, A.R., AHO, J.
Direct effects of glucagon on renal hemodynamics
and excretion of inorganic ions.
Metab. 16, 358-373, (1967)
6. PALOYEN, E., HARPER, P.V.
Glucagon-induced hypocalcemia.
Metab. 16, 35, (1967)

7. UNGER, R.H., KETTERER, H., EISENTRAUT, A.M., OHNEDA, A.
Effect of glucose and amino acids on glucagon.
Clin. Res. 15; 62, (1967)
8. LEVY, M. and STARR, N.L.
The mechanism of glucagon induced natriuresis in dogs.
Kidney Intern. 2, 76-84, (1972)
9. LIEBERMAN, U.A., SPERLING, O., ATSMON, A., FRANK, M.
Metabolic and calcium kinetic studies.
J. Clin. Invest. 47, 2580-2590, (1968)
10. HENNEMAN, P.H., BENEDIKT, P.H., FORBES, A.P.,
DUDLEY, H.R.
Idiopathic hypercalcuria.
New Engl. J. Med. 259, 802 - 807, (1958)
11. PEACOCK, M. and NORDIN, B.E.C.
Tubular reabsorption of calcium in normal and hyper-
calciuric subjects.
J. Clin. Path. 21, 353 - 358, (1968)
12. UNGER, R.H., OHNEDA, A., EISENTRAUT, A.M., AXTON, J.
Characterisation of the responses of circulating
glucagonlike immunoreactivity intraduodenal and intra-
venous administration of glucose.
J. Clin. Invest. 47, 48 - 64, (1968)
13. CARE, A.D., BATES, R.F.L., PHILLIPPO, M., LEQUIN, R.M.,
HACKENG, W.H.L., BARLET, J.P., LARBOR, P.
Stimulation of calcitonin release from bovine thyroid
by calcium and glucagon.
J. Endocr. 48, 667-668, (1970)

14. AVIOLI, L.V., SHIEBER, W., KIPNIS, D.M.
Role of glucagon and adrenergic receptors in thyro-
calcitonin release in the dog.
Endocrinology 88, 1337-1340, (1971)
15. DAVIDSON, W.D., SACKNER, M.A.
Analysis of inulin by anthron-method.
J. Lab. Clin. Med. 62, 351, (1963)
16. FISKE, C.H., SUBBAROW, Y.
Colorimetric determination of phosphorus.
J. Biol. Chem. 66, 375, (1925)
17. SCHWILLE, P.O., ERNSTBERGER, W.
Ultrafiltrables Calcium und Magnesium bei Nierenstein-
kranken.
Clin. Chim. Acta 38, 379-384, (1972)
18. KAUFMANN, E.C., DI SCALA, V.A.
Effects of thyroparathyroidectomy on renal hemodynamics
in the dog.
Endocrinology 89, 909-911, (1971)
19. HADDY, F.J., SCOTT, B.J., FLORIO, M.A., DAUGHERTY, R.M.,
HULZENGA, J.
cit. n. (18)
Amer. J. Physiol. 204, 202, (1963)

20. TIBBLIN, S., KOCK, N.G., SCHENK, W.G.
Central and peripheral circulatory responses to
glucagon in hypovolemic dogs.
Acta Chir. Scand. 137, 603-611, (1971)

21. UNGER, R.H.
Glucagon and the insulin: Glucagon ratio in diabetes
and other catabolic illnesses.
Diabetes 20, 834-838, (1971)

22. TANZER, F.S., KENNEDY, J.W. III, TELMAGE, R.V.
A comparison of the effects of thyrocalcitonin and
glucagon on plasma calcium and phosphate (34506).
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 133/2, 500-505, (1970)

23. SANTEUSANIO, F., FALOONA, G.R., UNGER, R.H.
Suppressive effect of secretin upon pancreatic
alpha cell function.
J. Clin. Invest. 51, 1743-1749, (1972)

Lebenslauf

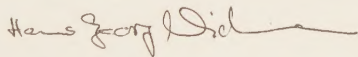
Am 2.6.1946 wurde ich, Hans-Georg Widmann, als Sohn von Dr. Helmut Widmann, Assistenzarzt, und seiner Frau Marie-Luise, geb. Grahn, in Tübingen geboren. Dort besuchte ich vier Jahre lang die Volksschule und wechselte dann auf das humanistische Gymnasium über. Nach drei Jahren verzog unsere Familie nach Villingen im Schwarzwald; dort bestand ich im Februar 1966 das Abitur am neusprachlich-naturwissenschaftlichen Gymnasium.

Zum Sommersemester 1966 wurde ich zum Studium der Medizin an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen zugelassen. Hier legte ich nach einem Jahr das Vorphysikum, nach weiteren drei Semestern das Physikum ab. Im Sommer 1972 bestand ich die ärztliche Prüfung.

Zwischen Januar 1973 und Oktober 1974 war ich 16 Monate als Medizinalassistent tätig, acht in der inneren Medizin, vier in der Chirurgie und vier in der Kinderheilkunde. Seit November 1974 arbeite ich in der Pathologie des Städtischen Krankenhauses Am Urban in Berlin als Assistenzarzt.

Meine Staatsangehörigkeit ist deutsch.

Erlangen, im Juli 1976



Hans-Georg Helmut W i d m a n n

Copy-Center 2000

852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197